

手指潰瘍の治療効果を有することが示唆された。現在、我々は医師主導治験（ランダム化2重盲検試験）を行っており、今後の詳細な臨床研究の蓄積によって適応拡大が望まれる。

32. モデルマウスを用いた本態性振戦発症機序の解明

細井 延武¹, 柴崎 貢志², 今野 歩¹

村松 慎一³, 石崎 泰樹², 平井 宏和¹

古市 貞一⁴, 定方 哲史⁵

(1 群馬大院・医・脳神経再生医学)

(2 群馬大院・医・分子細胞生物学)

(3 自治医科大学 地域医療学センター)

(4 東京理科大学理工学部応用生物科学科

分子神経科学研究室)

(5 群馬大院・医・教育研究支援センター)

【背景と目的】 不随意的震えを起こす疾患である本態性振戦は65歳以上の有病率が5-14%と高い。老人の代名詞とも言うべき疾患であるが、未だその発症メカニズムは解明されていない。GTP結合タンパク質であるARFタンパク質はクラスI (ARF1, 2, 3), クラスII (ARF4, ARF5), クラスIII (ARF6) の3種に分類される。ARF4およびARF5の遺伝子欠失(KO)マウスを作製したところ、ARF4(+/-)かつARF5(-/-)マウス(以下、クラスII ARF KOマウス)は体の震えを示した。私は脳の機能破綻と振戦の関係について明らかにすることを目的とし、以下の研究を行った。【材料と方法】 脳波測定のための電極はマウス大脳皮質に埋め込み、基準電極は小脳に埋め込んだ。また、筋電図測定のための電極は頸部に埋め込んだ。小脳スライスは250~300μmの厚みで作製し、電気生理学的解析に用いた。アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター作製については、C末側にhemagglutinin (HA) タグを付したARF5遺伝子をL7プロモーター遺伝子の下流につなげ、AAV9を作製した。【結果】 クラスII ARF KOマウスの振戦に対する薬の効果を首振り頻度にて評価を行った。ヒト本態性振戦の患者に使われるpropranolol, gabapentinは効果を示した。一方、パーキンソン病患者に処方されるL-DOPAやミオクロノスτέんカン患者に処方されるvalproateは効果を示さなかった。自由行動が可能な覚醒下において、脳波と筋電図の測定を行った。野生型マウスとクラスII ARF KOマウスの間において、非動時には違いは見られなかったが、活動時においてKOマウスで異常な脳波が見られた。小脳スライスを用いて電気生理学的な解析を行った結果、プルキンエ細胞の活動電位の発生が、クラスII ARF KOマウスにおいて落ちていることが明らかになった。免疫組織染色によりNaチャンネルの局在について検討を行った結果、Nav1.6チャンネルの軸索起始部における局在が消失していることが示された。小脳プルキンエ細胞特異的にクラスII ARFタンパク質を発現するAAVベクターによりレスキューを行った

マウスは、振戦の低減を示した。また、Nav1.6の軸索起始部への局在も観察された。【考察と結語】 これらの結果から、小脳プルキンエ細胞におけるクラスII ARFタンパク質の欠失により電位依存性NaチャンネルであるNav1.6の軸索起始部における局在のみが消失し、小脳プルキンエ細胞の活動電位の発生に異常が起き、振戦の原因となることが示された。ARFタンパク質は膜輸送に関与していると考えられている。過去にはクラスII ARFタンパク質がエンドソームの形質膜との融合に関与することを示している論文もある。一方、Navチャンネルは、いったん細胞体の形質膜に輸送された後、エンドソームを経て、軸索へ運ばれるということを示唆している論文もある。我々はクラスII ARFタンパク質がエンドソームの輸送に関与することで、Nav1.6が軸索起始部へ輸送されるのではないかと考え、今後詳細なメカニズムを検討する予定である。

33. マウス CNS における AAV-PHP.B の中和抗体と遺伝子発現の検討

篠原洋一郎^{1,2}, 今野 歩¹, 諏訪 純也³

廣村 桂樹³, 秋山 英雄², 平井 宏和¹

(1 群馬大院・医・脳神経再生医学)

(2 群馬大院・医・眼科学)

(3 群馬大院・医・腎臓・リウマチ内科学)

【背景と目的】 AAV-PHP.Bは、静脈注射で成体マウスの血液脳関門を透過し、中枢神経系(CNS)へ効率的かつ広範囲に遺伝子導入することができるAAV9のカプシドバリエーションである。静脈経路でウイルスベクターを投与した場合の最大の問題点は中和抗体(NAb)産生であり、一般的に2回目の遺伝子導入に用いることができない。AAV-PHP.Bに対するNAbと遺伝子発現の関係については報告されていない。今回、我々はAAV-PHP.Bをマウスに静脈注射した時の、NAb産生と脳における遺伝子発現の経時変化を検討したので報告する。【材料と方法】 野生型の生体マウス(4~5週齢)にAAV-PHP.Bを静脈注射し、投与後0~7日の各時点でマウス血清を回収、ELISA法でNAbを測定しNAb産生の時間経過を明らかにした。次に、アストロサイト特異的GFAPプロモーター制御下で赤色蛍光タンパク質(mCherry)を発現するAAV-PHP.B (GFAP-mCherry)を生体マウスに静脈注射し、マウスにNAb産生を誘導した。初回ウイルス投与後0~7日間隔を空けて、神経細胞特異的NSEプロモーター制御下で緑色蛍光タンパク質(GFP)を発現するAAV-PHP.B (NSE-GFP)を静脈注射した。1回目の静脈注射によるNAb産生が2回目のウイルス静脈投与による遺伝子発現に与える影響を、2回目の投与後2週間で脳の遺伝子発現を観察することで明らかにした。【結果】 AAV-PHP.Bに対するNAbはAAV-PHP.B投与後2日で検出され、時間経過で急激に増加した。また、GFAP-mCherry投与後に間隔を空けてNSE-GFPを投与する実験では、コントロール(0日)と